

Обмен нуклеиновых кислот у больных с тяжелой ожоговой травмой, и возможности его коррекции

Е. И. Верещагин¹, И. М. Митрофанов¹, И. Ю. Саматов²,
Е. И. Стрельцова², А. Л. Вейнберг², Е. А. Поттер³, С. С. Богачов³

¹ Новосибирский Государственный Медицинский Университет Минздрава России,
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52

² Государственная Новосибирская Областная Клиническая больница,
Россия, 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д. 130

³ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, д. 10

Nucleic Acid Metabolism in Patients with Severe Burn Injury and the Possibility of Its Correction

Evgeny I. Vereshchagin¹, Igor M. Mitrofanov¹, Igor Yu. Samatov², Elena I. Strel'tsova²,
Anna L. Veinberg², Ekaterina A. Potter³, Sergey S. Bogachov³

¹ Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of Russia,
52 Krasny Prospect, 630091 Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk Region State Clinical Hospital
130 Nemirovich-Danchenko Str., 630087 Novosibirsk, Russia

³ Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS
10 Academic Lavrentiev Pr., 630090 Novosibirsk, Russia

Цель исследования: оценить изменения обмена нуклеиновых кислот (НК) при тяжелой ожоговой травме, и разработать рекомендации по коррекции алиментарного статуса с учетом этих изменений.

Материалы и методы. Всех больных (37 пациентов с термическим ожогом II–III степени и площадью поражения более 40%) разделили на 2 группы: в группу I вошли выжившие пациенты (23 человека), группу II составили умершие. Интенсивность обмена НК оценивали по динамике концентраций мочевой кислоты (МК) и олигонуклеотидов сыворотки крови.

Результаты. В остром периоде ожоговой травмы характерно выраженное снижение МК (менее 100 мкмоль/л), с постепенной стабилизацией у выживших. Кроме того, для выживших больных в остром периоде характерно увеличение в 2–3 раза концентрации олигонуклеотидов сыворотки крови по сравнению с нормой, и, начиная с 5 суток, данные изменения достоверно отличались от группы умерших пациентов. Учитывая полученные данные, уровень МК сыворотки крови можно рекомендовать в клинической практике для оценки алиментарного статуса при ожоговой болезни, а также как критерий для определения показаний к использованию глутамина у критических больных. У больных с ожоговой болезнью снижение МК менее 100 мкмоль/л расценивали как абсолютное показание для применения препаратов L-глутамин. Использование глутамин на фоне выраженного снижения МК сопровождалось достоверным ростом интенсивности обмена НК, о чем свидетельствовало как увеличение уровней мочевой кислоты (на 85% к 10 суткам после начала введения глутамин, $p < 0,01$), так и восстановление репарационных процессов.

Заключение. У больных тяжелой ожоговой травмой отметили выраженное изменение метаболизма НК в обеих группах. Вместе с тем, для выживших пациентов было характерно быстрое восстановление обмена НК. В качестве фармакологического агента, эффективно устраняющего депрессию метаболизма НК использовали глутамин.

Ключевые слова: термическая травма; интенсивная терапия; алиментарный статус; обмен нуклеиновых кислот; олигонуклеотиды; мочевая кислота; глутамин

Purpose. To assess changes in nucleic acid (NA) metabolism in severe burn injury and to develop recommendations for correction of the alimentary status taking into account changes in the NA metabolism.

Materials and methods. All patients (37 patients with II–III degree thermal burns and a burn area of more than 40%) were divided into 2 groups: Group I included survivors (23 patients), group II consisted of the deceased. The intensity of the NA metabolism was assessed based on the dynamics of the of uric acid (UA) and oligonucleotides serum concentrations.

Results. In the acute period of burn injury, marked decrease in UA levels (less than 100 $\mu\text{mol/l}$), with gradual stabilization in survivors is typical. In addition, a 2–3-fold increase in the concentration of serum oligonucleotides

Адрес для корреспонденции:

Евгений Иванович Верещагин
E-mail: eivv1961@gmail.com

Correspondence to:

Evgeny I. Vereshchagin
E-mail: eivv1961@gmail.com

compared to the normal limit is typical for survivors in the acute period, and these changes were significantly different from the group of deceased patients starting from day 5. Taking into account the data obtained, the level of serum UA can be recommended in clinical practice for the assessment of alimentary status in burn disease, as well as a criterion for the prescription of glutamine administration in critically ill patients. In patients with burn disease a decrease in the UA level to less than 100 $\mu\text{mol/l}$ was regarded as an absolute indication for the use of L-glutamine products. The use of glutamine in patients with significant decrease in UA levels was accompanied by a significant increase in the intensity of NA metabolism, which was demonstrated by both an increase in uric acid levels (by 85% by day 10 after the start of glutamine administration, $P < 0.01$) and restoration of repair processes.

Conclusion. Therefore, there was a marked alteration of NA metabolism in both groups of patients with severe burn injury. At the same time, surviving patients are characterized by rapid recovery of NA metabolism. Glutamine was employed as a pharmacological agent that effectively abrogates the depression of NA metabolism.

Keywords: *thermal injury; intensive care; alimentary status; nucleic acid metabolism; oligonucleotides; uric acid; glutamine*

DOI:10.15360/1813-9779-2019-1-4-11

Введение

Интенсивность обмена нуклеиновых кислот (НК) при критических состояниях является важным фактором, определяющим их исход. Синтез фрагментов НК (нуклеотидов) — один из наиболее активных процессов в клетке. Воспроизводство нуклеотидов требует значительное количество пластических веществ, в том числе аминокислот глутамин и глицин. По затратам энергии этот процесс также относится к крайне напряженным. Вместе с тем, ряд «барьерных» органов (печень, кишечник, лимфоузлы, селезенка) и костный мозг при критических состояниях должны усиливать синтез НК в десятки раз. Именно скорость деления клеток и, следовательно, скорость синтеза НК определяет скорость регенерации и функциональные резервы этих органов.

В настоящий момент существуют медикаментозные способы изменения интенсивности синтеза и распада НК, однако для эффективного использования этих препаратов необходим надежный способ оценки интенсивности обмена НК, в противном случае их использование будет либо малоэффективно, либо может привести к ухудшению состояния организма человека.

Ранее предложенный нами способ диагностики нарушений обмена НК заключается в одновременном определении в сыворотке крови двух параметров — нуклеиновых кислот сыворотки крови (НКСК) и мочевой кислоты сыворотки крови (МКСК) [1]. НКСК характеризуют секрецию НК. Влияние распада клеток на уровень НКСК, по-видимому, минимальное, поскольку клеточные фрагменты НК быстро распадаются под действием ферментов, или элиминируются с большой скоростью через рецепторы-привратники TLR3 и 9 типов. Действительно, наши исследования [2] показали, что у больных с тяжелым хирургическим сепсисом, при котором отмечается усиленный катаболизм и ускоренная гибель клеток, концентрация НКСК может как снижаться, так и повышаться. Более того, многочисленные данные [3, 4] свидетельствуют о том, что в норме концентрация

Introduction

The intensity of nucleic acid (NA) metabolism in critical conditions is an important factor determining the outcome of the critical state. Synthesis of NA fragments (nucleotide) is one of the most active processes in the cell. Nucleotide reproduction requires a significant amount of plastic substances, including amino acids glutamine and glycine. In terms of energy costs, this process is also extremely stressful. At the same time, a number of «barrier» organs (liver, intestines, lymph nodes, spleen) and bone marrow should increase the synthesis of NA tenfold under critical conditions. It is the rate of cell division in these organs, and therefore the rate of NA synthesis that determines the rate of regeneration and functional reserves of these organs.

At present, there are ways to change the intensity of the synthesis and disintegration of NA, but a reliable way to assess the intensity of NA metabolism is necessary for the effective use of these drugs, otherwise their use will be either ineffective or may lead to deterioration of the disease.

A method for diagnosing NA metabolic disorders proposed previously consists in simultaneous determination of two parameters in the blood serum: serum nucleic acids (SNA) and serum uric acid (SUA) [1]. SNA concentrations characterize the level of circulating NA liberating from cells. The effect of cell disintegration on the SNA level appears to be minimal, since NA cell fragments disintegrate rapidly under the action of enzymes, or are eliminated at a greater rate through the gatekeeper receptors TLR3 and TLR9. Indeed, our studies [2] have shown that in patients with severe surgical sepsis, in which there is increased catabolism and accelerated cell death, the SNA concentration can both decrease and increase. Moreover, numerous data [3, 4] indicate that normally the SNA concentration is a constant value, and changes in the SNA concentration in one direction or another may be accompanied by pathological changes per se. Therefore, maintaining a certain SNA level of is an active process. It is obvious that NA in extracellular fluid corresponds, first

НКСК является величиной постоянной, а изменения концентрации НКСК в ту или иную сторону могут сами по себе сопровождаться патологическими сдвигами. Таким образом, поддержание определенного уровня НКСК является активным процессом. Очевидно, что НК во внеклеточной жидкости соответствуют, в первую очередь, интенсивности обмена НК, но не интенсивности гибели клеток.

Мочевая кислота сыворотки крови характеризует, как известно, скорость распада нуклеиновых кислот до пуриновых оснований и далее до мочевой кислоты (МК). Однако обычно определение концентрации МКСК используется для диагностики мочекишечного диатеза или подагры, при этом принимаются в расчет только повышенные значения. Вместе с тем, при критических состояниях нами отмечено резкое снижение МК, свидетельствующее о том, что большинство образующихся пуриновых оснований вновь используется в синтезе НК *de novo*. Следовательно, МКСК является параметром, по которому также можно оценить интенсивность обмена НК. Высокие значения МК свидетельствуют о преобладании распада НК над синтезом, при этом значительная часть пуриновых оснований деградирует до МК. Низкие значения МК, напротив, свидетельствуют о том, что потребность в НК значительно увеличена, потребность в пуриновых основаниях преобладает над возможностью их синтеза, как следствие — распад пуриновых оснований резко снижен.

Таким образом, при одновременном определении средней концентрации НК и средней концентрации МК в сыворотке крови можно оценивать как интенсивность синтеза НК, так и интенсивность распада НК во всем организме. На основе полученных данных появляется возможность своевременной диагностики и коррекции обмена НК. Ранее было показано, что своевременная диагностика и восстановление сниженного обмена НК может стать важным фактором в исходе лечения больных с алиментарной недостаточностью при ахалазии или рубцовом сужении пищевода [1].

Интенсивная терапия тяжелой ожоговой травмы остается важнейшей проблемой. Сразу после выведения из шока отмечается крайнее напряжение метаболических процессов, связанных в первую очередь с выраженным катаболизмом. Между тем, контроль алиментарного статуса с помощью общепринятых критериев (альбумин, индекс Кетле, содержание лимфоцитов) в остром периоде не информативен. Кроме того, обмен нуклеиновых кислот при тяжелой ожоговой травме не изучен. Соответственно, отсутствуют рекомендации по коррекции алиментарного статуса с учетом метаболизма НК как в остром, так и подостром (стадии септических осложнений и истощения) периодах.

Цель — оценить изменения обмена НК при тяжелой ожоговой травме, и разработать рекомендации по коррекции алиментарного статуса с учетом этих изменений.

of all, to the intensity of the NA metabolism, but not to the intensity of cell death.

SUA is known to characterize the rate of disintegration of nucleic acids to purine bases and further to uric acid (UA). However, usually, the determination of the SUA concentration is used for the diagnosis of uric acid diathesis or gout; at that, only the increased values are taken into account. At the same time, in critical conditions, we noted a sharp decrease in UA levels, indicating that most of the purine bases formed are again used in the NA synthesis *de novo*. Therefore, the SUA is a parameter by which the intensity of the NA metabolism can also be estimated. High UA values indicate the predominance of NA disintegration over synthesis, while a significant part of purine bases degrades to UA. Low UA values, on the contrary, indicate that the need for NA increased significantly, the need for purine bases prevails over the possibility of their synthesis, and as a result, the disintegration of purine bases is sharply reduced.

Therefore, in the case of simultaneous determination of SNA and SUA, both the intensity of the NA synthesis, and the intensity of the NA disintegration in the body can be estimated. On the basis of the data obtained, it is possible to diagnose and correct the NA metabolism on a timely basis. As it has been shown previously, the timely diagnosis and restoration of reduced NA metabolism can be an important factor in the outcome of treatment of patients with alimentary insufficiency with achalasia or cicatricial narrowing of the esophagus [1].

Therapy of a severe burn injury remains the most important problem of intensive care. Immediately after recovery from shock, there is an extreme tension of metabolic processes associated primarily with marked catabolism. Meanwhile, the monitoring of alimentary status using generally accepted criteria (albumin, Quetelet index, and lymphocyte count) in the acute period is not informative. In addition, the nucleic acid metabolism in severe burn injury has not been studied. Therefore, there are no recommendations for correction of the alimentary status, taking into account the NA metabolism in both acute and subacute (stage of septic complications and exhaustion) periods.

Purpose: to assess changes in NA metabolism in severe burn injury and to develop recommendations for correction of the alimentary status taking into account changes in the NA metabolism.

Materials and Methods

This study was conducted in the burn center of the regional clinical hospital of Novosibirsk (Russia) in 2016–2018. In total, the study included 37 patients of both sexes aged 15–70 years with severe burn injury: II–III degree burn with an area of more than 40%, or II–IV degree burn with an area of more than 20%, or II–III burn with an area of more than 20% + burns of the upper respiratory tract; patients were in the combustiological ICU for more than 3

Материал и методы

Данное исследование провели в 2016–2018 гг. на базе ожогового центра Областной клинической больницы Новосибирска (РФ). Всего в исследование включили 37 больных обоего пола в возрасте 15–70 лет с тяжелой ожоговой травмой: ожог II–III степени площадью более 40%, или II–IV ст., площадью более 20%, или II–III ст. площадью более 20% + ожог верхних дыхательных путей, находившихся в ОРИТ ожоговой травмы более 3 суток. Группу I составили выжившие больные (23 человека), Группу II составили умершие (14 человек). Исследование было одобрено региональным этическим комитетом Областной клинической больницы Новосибирска.

Критериями исключения являлись: возраст менее 14 и более 70 лет, сопутствующие хронические заболевания в стадии декомпенсации, а также заболевания, сопровождающиеся выраженными изменениями метаболизма нуклеиновых кислот, а именно: онкологические заболевания, аутоиммунные заболевания и подагра. Почечная недостаточность, требующая заместительной почечной терапии, также являлась критерием исключения.

Интенсивную терапию термической травмы в острый и подострый период осуществляли согласно принятым клиническим рекомендациям [5]. Нутритивную поддержку осуществляли согласно рекомендациям Европейского Общества Клинического Питания и Метаболизма [6].

Контроль биохимических показателей сыворотки крови, в том числе, уровень мочевины, осуществляли на биохимическом анализаторе «AU-480» («Beckman Coulter», Великобритания). Уровень олигонуклеотидов в сыворотке крови оценивался по методу Шмидта-Тангаузера. Предподготовку образцов осуществляли следующим образом. К 0,4 мл плазмы крови добавляли 11,6 М HClO₄ до конечной концентрации 0,5 М и кипятили на водяной бане в течение 30 мин. Гидролизаты охлаждали и центрифугировали 5 мин при 12000–14000g. После преципитации олигонуклеотидов осуществляли спектрофотометрия на длинах волн 270 и 290 нм против контрольного раствора 0,5 М HClO₄, использовали спектрофотометр «Genesys 10uv» («Thermo Spectronic», ФРГ). Содержание (нг/мл) нуклеиновых кислот рассчитывали по формуле:

$$C = (A_{270} - A_{290}) \times 10,3 / 0,19,$$

где 0,19 — значение ($A_{270} - A_{290}$), которое имеет гидролизат нуклеиновых кислот, содержащий 1 нг нуклеинового фосфора в 1 мл раствора; 10,3 — средний пересчетный коэффициент для пересчета количества нуклеинового фосфора на количество нуклеиновых кислот.

С целью коррекции депрессии синтеза НК у части пациентов (19 человек) использовали раствор глутамина — фармаконутриент L-глютамин 0,4 г/кг/сутки внутривенно в течение 7–10 дней. Снижение концентрации мочевины ниже 100 мкмоль/л (т. е. в 2 раза ниже нормальных значений) было принято как показание для назначения глутамина.

Проводили двухфакторный дисперсионный анализ повторных измерений (Repeated ANOVA), статистическую обработку с использованием пакета STATISTICA 8.0.

Результаты и обсуждение

Из 37 больных тяжелой ожоговой травмой выжили 23, летальность составила 38%. Причиной

days. Group I consisted of survivors (23 subjects), Group II consisted of the deceased (14 subjects). The study was approved by the regional Ethical Committee of the regional clinical hospital of Novosibirsk.

The exclusion criteria were as follows: age less than 14 and more than 70 years, decompensated comorbidities, as well as diseases accompanied by pronounced changes in the metabolism of nucleic acids (cancer, autoimmune diseases and gout). Patients with renal failure requiring renal replacement therapy were also excluded.

Intensive therapy of thermal injury in acute and sub-acute period was carried out according to accepted clinical recommendations [5]. Nutritional support was provided according to the recommendations of the European Society of Clinical Nutrition and Metabolism [6].

Monitoring of biochemical parameters of blood serum, including uric acid level, was carried out using biochemical analyzer «AU-480» («Beckman Coulter», UK). The oligonucleotides serum level was estimated by the Schmidt-Thanhauser method. Pre-preparation of samples was carried out as follows. Add 11.6 M HClO₄ to 0.4 ml of blood plasma up to a final concentration of 0.5 M and boil in a water bath for 30 min. Cool hydrolysates and centrifuge them for 5 minutes at 12000–14000 g. After oligonucleotide precipitation, spectrophotometry at wavelengths of 270 and 290 nm against 0.5 M HClO₄ reference solution was carried out; spectrophotometer «Genesys 10 uv» («Thermo Spectronic», Germany) was used. The content (ng/ml) of nucleic acids was calculated using the following formula:

$$C = (A_{270} - A_{290}) \times 10.3 / 0.19,$$

where 0.19 is the ($A_{270} - A_{290}$) value of the hydrolysate of nucleic acids containing 1 ng of nucleic phosphorus in 1 ml of the solution; 10.3 is the average conversion factor for conversion of the amount of nucleic phosphorus to the amount of nucleic acids.

In order to correct the decreased level of NA synthesis in some patients (19 subjects), a glutamine solution, pharmacnutrient L-glutamine, was used intravenously at a dose of 0.4 g/kg/day for 7–10 days. Reduction of uric acid concentration below 100 μmol/l (i.e. 2 times lower than normal values) was taken as an indication for glutamine administration.

A two-way repeated measures ANOVA (Repeated ANOVA) was carried out. Statistical processing of data was performed using the STATISTICA 8.0 package.

Results and Discussion

23 of 37 patients with severe burn injury survived; the mortality rate was 38%. Purulent-septic complications that developed on days 10–28 after burn injury were the cause of death in all 14 cases. The mean age of survivors was 49.2±2.9 years; in Group II, it was 42.4±3.6 years. Therefore, no significant age differences between groups were observed ($P>0.167$).

The analysis of UA dynamics in the survived patients (Group I) showed 3 stages of changes in UA serum concentration (table 1). As a rule, normal UA values were observed at the first stage (burn shock, days 1–3). The average UA level was 344.1±32.1 on the first day (normal limits: 200–415 μmol/l for men and 200–350 μmol/l for women).

At the second stage (days 3–10), there is a significant decrease as compared to the normal limits. Although in some cases there was a decrease below 100 μmol/l, the

Таблица 1. Концентрация мочевой кислоты в сыворотке крови у больных с тяжелой термической травмой.
Table 1. Concentration of uric acid in serum of patients with severe thermal trauma.

Study stages	Uric acid (μmol/l)				P
	Group I		Group II		
	n	M±SE	n	M±SE	
Day 1	21	344.1±32.1	14	399.2±38.5	0.2825
Day 3	22	222.0±20.2	12	313.5±50.2	0.0544
Day 5	23	165.0±12.0	12	164.1±27.9	0.9706
Day 7	22	146.3±10.1	11	94.7±10.5*	0.0031
Day 10	21	146.1±7.3	12	87.5±7.6*	0.0001
Day 14	19	161.2±7.9	12	114.8±14.0*	0.0041

Note. * — $P < 0.05$, compared to the reference group. Normal limits: 200–350 $\mu\text{mol/l}$ for women and 200–415 $\mu\text{mol/l}$ for men.

Примечание. Для табл. 1, 2, рис.: study stages — этапы исследования; day — сутки; group — группа; uric acid — мочевая кислота.

* — $p < 0,05$ по сравнению с группой 1. Нормальные значения: 200–350 мкмоль/л — для женщин; 200–415 мкмоль/л — для мужчин.

смерти во всех 14 случаях стали гнойно-септические осложнения, развившиеся на 10–28-е сутки с момента ожоговой травмы. Средний возраст выживших пациентов (группа I) составил $49,2 \pm 2,9$ года, в группе II — $42,4 \pm 3,6$ года. Таким образом, достоверной возрастной разницы между группами не отметили ($p < 0,1671$).

При анализе динамики МК у выживших больных (группа I) отметили 3 этапа изменений концентрации МК в сыворотке крови (табл. 1). На первом этапе (ожоговый шок, 1–3-и сутки), как правило, отмечали нормальные значения МК. Концентрация МК на 1-е сутки в среднем составила $344,1 \pm 32,1$ мкмоль/л (нормальные значения: 200–415 мкмоль/л для мужчин, и 200–350 мкмоль/л для женщин).

На втором этапе (3–10-е сутки) отметили ее достоверное снижение по сравнению с нормой. Хотя в ряде случаев отмечали снижение ниже 100 мкмоль/л, средние значения не опускались ниже $146 \pm 7,3$ мкмоль/л. На третьем этапе (11–20-е сутки) у выживших отмечали медленный рост концентрации МК в сыворотке крови, однако средние значения оставались в районе нижних значений нормы.

В группе II отмечали сходную динамику (табл. 1), однако, начиная с 7-х суток, отмечали достоверно более низкие значения МК по сравнению с группой I ($p < 0,01$). Кроме того, отсутствовал достоверный рост концентрации мочевой кислоты, и на 20-е сутки концентрация МК составила $112,1 \pm 6,9$ ($p < 0,001$ по сравнению с группой 1).

Изменения НКСК в группах также имели разнонаправленный характер (табл. 2). При ожоговом шоке (1–3-и сутки) отметили концентрацию НКСК в пределах нормальных значений (10–50 нг/мл). Последующее ее увеличение в 2 раза было типично для выживших, причем данную динамику отметили уже на 5-е сутки ($p < 0,001$). Наиболее значимые различия между группами отмечали с 10-х суток. В частности, содержание олигонуклеотидов в сыворотке крови больных группы I на 14-е сутки было больше в 2,4 раза по сравнению с группой II ($p < 0,0001$).

mean values did not fall below $146 \pm 7,3$ $\mu\text{mol/l}$. At the third stage (days 11–20), the survivors showed a slow increase in serum UA concentration, but the average values remained near the lower normal limit.

In group II, there is a similar dynamics (table 1), however, starting from day 7, there are significantly lower UA values as compared to Group I ($P < 0.01$). In addition, there was no significant increase in uric acid concentrations; and on day 20, the UA concentration was 112.1 ± 6.9 ($P < 0.001$ vs. Group 1).

Changes in SNA in the groups were also multidirectional (table 2). In the case of burn shock (days 1–3), the SNA values within the normal range (10–50 ng/ml) were observed. The subsequent 2-fold increase is typical for survivors; at that, this dynamics was observed as early as on the 5th day ($P < 0.001$). The most significant intergroup differences were observed later starting from day 10. Particularly, the oligonucleotide serum levels in Group I patients on day 14 was 2.4 times higher ($P < 0.0001$) as compared to Group II.

Analysis of results demonstrated that in group I intravenous glutamine was used 1.6 times more often than in the group of the deceased (53 and 33%, respectively). The use of glutamine was accompanied by a rapid increase in the UA level by 25–84%. For comparison, in the group of patients where glutamine was not used, the increase in UA levels on day 7 was 18% ($P < 0.01$) (fig.).

Clinical case

Patient S. was admitted to the intensive care unit with II–III degree thermal injury and the affected area of more than 60%. On the 58th day of burn disease, which corresponds to the phase of complications and exhaustion, rapid rejection of the skin flap was noted after another plastic surgery. The UA serum level was determined; marked decrease to 75 $\mu\text{mol/l}$ was observed. Low UA level was considered an absolute indication for intravenous administration of L-glutamine at a dose of 0.4 g/day for 7 days. SUA was 125 mmol/day 5 days later. Another skin plastic was successful; 7 days later, the patient was transferred from the ICU in a state of moderate severity. Thus, it was the low level (75 $\mu\text{mol/l}$) of uric acid that was the indication for the use of L-glutamine. In turn, glutamine contributed to the

Таблица 2. Содержание олигонуклеотидов в сыворотке крови у больных с тяжелой термической травмой.
Table 2. Concentration of oligonucleotides in serum of patients with severe thermal trauma.

Study stages	Serum oligonucleotides (ng/ml)				<i>P</i>
	Group I		Group II		
	<i>n</i>	<i>M</i> ± <i>SE</i>	<i>n</i>	<i>M</i> ± <i>SE</i>	
Day 1	25	41.00±5.32	12	22.08±4.54	0.0294
Day 3	25	56.80±5.62	12	40.92±7.58	0.1096
Day 5	25	84.92±4.71	12	43.83±8.88*	0.0001
Day 7	25	82.08±5.97	12	60.67±7.75	0.0423
Day 10	25	88.32±4.97	12	43.83±8.77*	0.0001
Day 14	24	101.50±7.97	11	44.55±7.23*	0.0001

Note. * — $P < 0.01$ compared to group 1. Normal limits: 10–50 ng/ml.

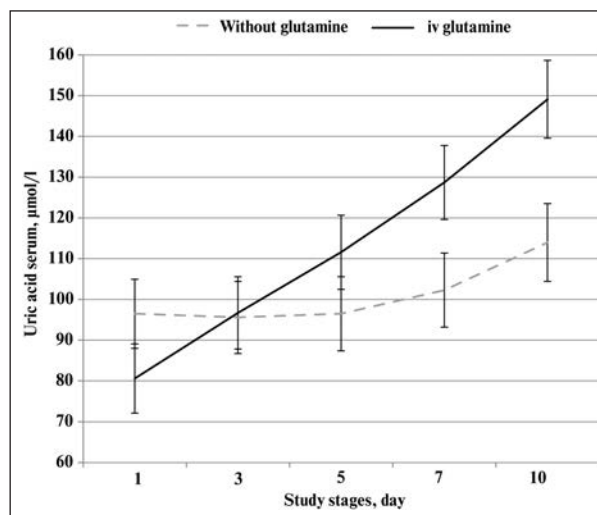
Примечание. * — $p < 0,01$ по сравнению с группой 1. Нормальные значения 10–50 нг/мл.

При анализе результатов отметили, что в группе I препарат глутамина использовали внутривенно в 1,6 раза чаще в сравнении с группой умерших (53 и 33% соответственно). Использование глутамина сопровождалось быстрым увеличением уровня МК на 25–84%. Для сравнения, в группе пациентов, где глутамин не использовали, прирост МК на 7-е сутки составил 18%, ($p < 0,01$) (рис.).

Клинический пример

Больной С. поступил в отделение реанимации с термической травмой II–III ст. и площадью поражения более 60%. На 58-е сутки ожоговой болезни, что соответствует фазе осложнений и истощения, после проведения очередной пластики кожного лоскута отметили его быстрое отторжение. Определили концентрацию МК в сыворотке крови, отметили ее выраженное снижение до 75 мкмоль/л. Это расценили как абсолютное показание для назначения препарата L-глутамина в дозе 0,4 г/сутки внутривенно в течение 7 дней. Уже через 5 суток концентрация МКСК составила 125 мкмоль/сутки. Очередная кожная пластика — успешна, через 7 суток больного перевели из ОРИТ в состоянии средней степени тяжести. Таким образом, именно низкая концентрация (75 мкмоль/л) мочевой кислоты явилась показанием для использования препарата L-глутамин. В свою очередь, глутамин способствовал восстановлению обмена НК, что проявилось быстрым ростом концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови, а клинически — восстановлением процессов репарации.

Тяжелая ожоговая травма сопровождается выраженным изменением метаболизма НК. Об этом свидетельствуют однотипные изменения концентраций МК и НК сыворотки крови в обеих группах. В частности, для острого периода ожоговой травмы характерно выраженное снижение концентрации МК сыворотки крови (менее 100 мкмоль/л), с ее быстрой стабилизацией у выживших. Очевидно, что выраженное снижение МК связано с усиленным синтезом НК и повышенным потреблением пуриновых оснований. В условиях повышенной потребности в НК, и, следовательно, пуриновых основаниях, лишь их малая доля подвергается последующему расщеплению до мочевой кислоты. Вместе с тем, достоверная разница между концентрацией МКСК в группе выживших и умерших свидетельствует о важности этого параметра для прогноза течения и коррекции терапии ожоговой травмы. Очевидно, что снижение МК менее 100 мкмоль/л является



Изменения концентрации мочевой кислоты сыворотки крови у больных с тяжелой ожоговой болезнью при внутривенном использовании препарата

Changes in the uric acid serum concentration in patients with severe burn disease following the intravenous administration of L-glutamine.

Note. iv — intravenous.

Примечание. Without/iv glutamine — без/внутривенный глутамин.

restoration of NA metabolism, which was accompanied by a rapid increase in the uric acid serum level, and clinically manifested by the restoration of repair processes.

As has been demonstrated in this study, the severe burn injury was accompanied by a marked change in the NA metabolism. It was demonstrated by similar changes in the concentrations of serum UA and NA in both groups. Specifically, in the acute period of burn injury, the marked decrease in UA serum levels (less than 100 μmol/l), with rapid stabilization in survivors was most common. It is obvious that the marked decrease in UA levels is associated with enhanced NA synthesis and increased consumption of purine bases. Under conditions of increased demand for NA and, consequently, purine bases, only a small proportion of them is subjected to subsequent cleavage to uric acid. At the same time, the significant difference between the SUA levels in the group of survivors and deceased patients shows the importance of SUA parameter for the prognosis and managing the burn injury. It seems likely that the decrease in UA levels to less than 100 μmol/l is a prognostically unfavorable factor requiring correction. L-glutamine is one of the drugs restoring reduced NA synthesis and activate NA metabolism [1].

прогностически неблагоприятным фактором, требующим коррекции. Одним из препаратов, восстанавливающих сниженный синтез НК и активирующих обмен НК, является L-глутамин [1].

Наряду с клиническими наблюдениями, в которых гипоглутаминемия у больных в критических состояниях сочеталась с негативным исходом, существуют экспериментальные исследования, подтверждающие негативный прогноз при дефиците глутамина, в первую очередь, на фоне подавления иммунной системы и повреждении слизистой кишечника [7]. Поэтому: 1) введение глутамина при критических ситуациях, как правило, оказывает позитивный эффект несмотря на исходное содержание глутамина в сыворотке, 2) парентеральное введение в основном имеет преимущество по сравнению с энтеральным [8, 9]. Однако отсутствие строго определенных показаний для использования глутамина является основным ограничением его применения в клинической практике [10].

В ряде исследований было показано, что ориентироваться на концентрацию глутамина в плазме без учета содержания в тканях не корректно [11–14]. Нормальное содержание глутамина в сыворотке крови может ассоциироваться с низким содержанием в мышцах, и наоборот. Вместе с тем, необходимо учитывать, что синтез и накопление глутамина происходит в мышечной ткани, а наиболее чувствительными к дефициту глутамина являются костный мозг, слизистая кишечника, лимфоидная ткань [15].

Таким образом, содержание глутамина в крови не может быть использовано как показание для введения глутамина у больных в критических состояниях. Очевидно, что необходим более надежный критерий для определения показаний к использованию глутамина у больных в критических состояниях. Одним из таких критериев, по-видимому, является мочева кислота.

Полученные нами результаты об использовании раствора глутамина на фоне низких концентраций мочевой кислоты свидетельствуют об эффективности предложенного метода коррекции метаболизма нуклеиновых кислот. Действительно, использование глутамина во всех случаях сопровождалось ростом концентрации МК в сыворотке крови, а клинически это выразилось в восстановлении репаративных процессов. У ряда пациентов именно благодаря своевременному использованию глутамина удалось радикально изменить ситуацию и обеспечить благоприятный исход. Таким образом, МК можно рекомендовать как критерий оценки алиментарного статуса при ожоговой болезни, а также использовать для определения показаний для назначения глутамина. Согласно нашему анализу, снижение концентрации МК ниже 100 мкмоль/л являлось абсолютным показанием для использования глутамина. Напротив, использование глутамина при высоких значениях МК (более 400 мкмоль/л) может сопровождаться негативными последствиями, поскольку метаболизм пуриновых оснований до мочевой кислоты, как известно, сопровождается генерацией активных форм кислорода.

Анализ изменений НКСК также позволяет сделать несколько выводов. Во-первых, в период шока содержание НКСК снижается по сравнению с нормой, что ставит под сомнение некро/апоптотическую природу олигонуклеотидов в сыворотке крови. Эти дан-

Along with clinical observations, where hypoglutaminemia in critically ill patients was associated with a negative outcome, there are experimental studies confirming the negative prognosis in the case of glutamine deficiency, in the first place, due to suppression of the immune system and damage of the intestinal mucosa [7]. Therefore, (1) glutamine administration in critical illness, as a rule, has a positive effect despite the baseline serum glutamine content, and (2) parenteral administration mainly has an advantage over the enteral one [8, 9]. However, the absence of strictly defined indications for the use of glutamine is the main limitation of its use in clinical practice [10].

A number of studies have shown that it is not correct to consider the glutamine plasma concentration with no focus on its tissue content [12–14]. Normal serum glutamine levels may be associated with low muscle levels, and vice versa. At the same time, it should be taken into account that glutamine synthesis and accumulation occurs in muscle tissue, and bone marrow, intestinal mucosa, lymphoid tissue belong to tissues most sensitive to glutamine deficiency [15].

Therefore, the blood glutamine level cannot be used as an indication for administration of glutamine in critically ill patients. More reliable criteria are needed to determine the indications for glutamine administration in critically ill patients. Presumably, the UA might serve as one such criterion.

The results obtained from the use of glutamine solution when the concentrations of UA is low demonstrate the effectiveness of the proposed method of correction of altered nucleic acid metabolism. Indeed, the use of glutamine in all cases was accompanied by an increase in the SUA levels, and clinically it was expressed in the way that may be considered as a result of a restoration of repair processes. In a number of patients, the timely use of glutamine resulted in radical changes of the situation toward favorable outcome. Thus, UA can be recommended as a criterion for assessing the alimentary status in burn disease, as well as it may be used to determine the indications for glutamine administration. According to our analysis, a decrease in the UA acid below 100 $\mu\text{mol/l}$ was an absolute indication for administration of glutamine. On the contrary, the use of glutamine at high UA values (more than 400 $\mu\text{mol/l}$) may be associated with negative consequences, since the metabolic conversion of purine bases to UA is known to be accompanied by the generation of reactive oxygen species.

Analysis of changes in the SNA levels also leads to several conclusions. First, during the period of shock, the SNA content decreases in comparison with the normal limits, which dispute the necrotic/apoptotic nature of oligonucleotides in the blood serum. From our point of view, these data favors the concept of active secretion of oligonucleotides into the extracellular space, and active maintenance of their level in the blood. Second, support of a high level of SNA (2-fold above the normal limits) appears to be a factor that influences the survival. This is confirmed by a significant increase in the SNA level by 2–3-fold in the acute period in patients of Group I as compared to the normal limits and Group II.

Conclusion

Therefore, there was a marked alteration of NA metabolism in both groups of patients with severe burn injury. At the same time, surviving patients are characterized by rapid recovery of NA metabolism. Glutamine was employed as a pharmacological agent that effectively abrogates the depression of NA metabolism.

ные свидетельствуют в пользу концепции об активной секреции олигонуклеотидов во внеклеточное пространство, и активном поддержании их определенной концентрации в сыворотке крови. Во-вторых, поддержание высокой концентрации НКСК (в 2 и более раза превышающей нормальные значения), по-видимому, является фактором, влияющим на выживание. Об этом свидетельствует достоверное увеличение НКСК в 2–3 раза в остром периоде ожоговой травмы у пациентов группы I как по сравнению с нормой, так и по сравнению с группой II.

Литература

1. Peshkova I.V., Bogachev S.S., Drobyazgin E.A., Chikinev Y.V., Mitrofanov I.M., Piontkovskaya K.A., Vereschagin E.I. Effect of glutamine on the nucleic acids exchange during the perioperative period in reconstructive oesophagus surgery. *J. Nutr. Health Food Eng.* 2015; 2 (4): 108–112. DOI: 10.15406/jnhfe.2015.02.00058
2. Валева В.А., Верещажин Е.И., Беркасова И.В., Стрельцова Е.И. Показатели обмена нуклеиновых кислот у больных с абдоминальным сепсисом. *Медицина и образование в Сибири.* 2012; 6: 60.
3. Наборщиков Д.А., Верещажин Е.И., Смагин А.А., Стрельцова Е.И. Продолженная заместительная почечная терапия в лечении деструктивного панкреатита. *Медицина и образование в Сибири.* 2012; 6: 42.
4. Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y. Extracellular nucleic acids. *Bioessays.* 2007; 29 (7): 654–667. DOI: 10.1002/bies.20604. PMID: 17563084
5. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Шлык И.В., Левин Г.Я., Ушакова Т.А., Тюрников Ю.И., Богданов С.Б., Бобровников А.Э. Диагностика и лечение ожогового шока. Клинические рекомендации. М.; 2014: 17.
6. Singer P., Berger M.M., Van den Berghe G., Biolo G., Calder P., Forbes A., Griffiths R., Kreyman G., Leverve X., Pichard C.; ESPEN. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: intensive care. *Clin. Nutr.* 2009; 28 (4): 387–400. DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.024. PMID: 19505748
7. Newsholme E.A., Crabtree B., Ardawi M.S. Glutamine metabolism in lymphocytes: its biochemical, physiological and clinical importance. *Q. J. Exp. Physiol.* 1985; 70 (4): 473–489. DOI: 10.1113/expphysiol.1985.sp002935. PMID: 3909197
8. Bollhalder L., Pfeil A.M., Tomonaga Y., Schwenkgenks M. A systematic literature review and meta-analysis of randomized clinical trials of parenteral glutamine supplementation. *Clin. Nutr.* 2013; 32 (2): 213–223. DOI: 10.1016/j.clnu.2012.11.003. PMID: 23196117
9. Wischmeyer P.E., Dhaliwal R., McCall M., Ziegler T.R., Heyland D.K. Parenteral glutamine supplementation in critical illness: a systematic review. *Crit. Care.* 2014; 18 (2): R76. DOI: 10.1186/cc13836. PMID: 24745648
10. Smedberg M., Wernerman J. Is the glutamine story over? *Crit. Care.* 2016; 20 (1): 361. DOI: 10.1186/s13054-016-1531-y. PMID: 27829456
11. Gamrin L., Essén P., Forsberg A.M., Hultman E., Wernerman J. A descriptive study of skeletal muscle metabolism in critically ill patients: free amino acids, energy-rich phosphates, protein, nucleic acids, fat, water, and electrolytes. *Crit. Care Med.* 1996; 24 (4): 575–583. DOI: 10.1097/00003246-199604000-00005. PMID: 8612406
12. Tjader L., Rooyackers O., Forsberg A.M., Vesali R.F., Garlick P.J., Wernerman J. Effects on skeletal muscle of intravenous glutamine supplementation to ICU patients. *Intensive Care Med.* 2004; 30 (2): 266–275. DOI: 10.1007/s00134-003-2048-9. PMID: 14722645
13. Ahlman B., Ljungqvist O., Persson B., Bindslev L., Wernerman J. Intestinal amino acid content in critically ill patients. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.* 1995; 19 (4): 272–278. DOI: 10.1177/0148607195019004272. PMID: 8523625
14. Hammarqvist F., Wernerman J., Ali R., von der Decken A., Vinnars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. *Ann. Surg.* 1989; 209 (4): 455–461. DOI: 10.1097/00000658-198904000-00011. PMID: 2494960
15. van der Hulst R.R., van Kreel B.K., von Meyenfeldt M.F., Brummer R.J., Arends J.W., Deutz N.E., Soeters P.B. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet.* 1993; 341 (8857): 1363–1365. DOI: 10.1016/0140-6736(93)90939-E. PMID: 8098788

Поступила 02.10.18

Заключение

Таким образом, при тяжелой ожоговой травме отмечено выраженное изменение метаболизма НК в обеих группах: у выживших и умерших пациентов. Вместе с тем, для выживших пациентов характерно быстрое восстановление обмена НК. В качестве фармакологического агента, эффективно устраняющего депрессию метаболизма НК, был использован глютамин.

References

1. Peshkova I.V., Bogachev S.S., Drobyazgin E.A., Chikinev Y.V., Mitrofanov I.M., Piontkovskaya K.A., Vereschagin E.I. Effect of glutamine on the nucleic acids exchange during the perioperative period in reconstructive oesophagus surgery. *J. Nutr. Health Food Eng.* 2015; 2 (4): 108–112. DOI: 10.15406/jnhfe.2015.02.00058
2. Valeeva V.A., Vereschagin E.I., Berkasova I.V., Streltsova E.I. Indicators of nucleic acids exchange at patients with abdominal sepsis. *Meditina i Obrazovanie v Sibiri.* 2012; 6: 60. [In Russ.]
3. Naborshchikov D.A., Vereschagin E.I., Smagin A.A., Streltsova E.I. Continuous substitutive renal therapy in treatment of serious destructive pancreatitis. *Meditina i Obrazovanie v Sibiri.* 2012; 6: 42. [In Russ.]
4. Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y. Extracellular nucleic acids. *Bioessays.* 2007; 29 (7): 654–667. DOI: 10.1002/bies.20604. PMID: 17563084
5. Alekseyev A.A., Krutikov M.G., Shlyk I.V., Levin G.Ya., Ushakova T.A., Tyurnikov Yu.I., Bogdanov S.B., Bobrovnikov A.E. Diagnosis and treatment of burn shock. Clinical recommendations. Moscow; 2014: 17. [In Russ.]
6. Singer P., Berger M.M., Van den Berghe G., Biolo G., Calder P., Forbes A., Griffiths R., Kreyman G., Leverve X., Pichard C.; ESPEN. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: intensive care. *Clin. Nutr.* 2009; 28 (4): 387–400. DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.024. PMID: 19505748
7. Newsholme E.A., Crabtree B., Ardawi M.S. Glutamine metabolism in lymphocytes: its biochemical, physiological and clinical importance. *Q. J. Exp. Physiol.* 1985; 70 (4): 473–489. DOI: 10.1113/expphysiol.1985.sp002935. PMID: 3909197
8. Bollhalder L., Pfeil A.M., Tomonaga Y., Schwenkgenks M. A systematic literature review and meta-analysis of randomized clinical trials of parenteral glutamine supplementation. *Clin. Nutr.* 2013; 32 (2): 213–223. DOI: 10.1016/j.clnu.2012.11.003. PMID: 23196117
9. Wischmeyer P.E., Dhaliwal R., McCall M., Ziegler T.R., Heyland D.K. Parenteral glutamine supplementation in critical illness: a systematic review. *Crit. Care.* 2014; 18 (2): R76. DOI: 10.1186/cc13836. PMID: 24745648
10. Smedberg M., Wernerman J. Is the glutamine story over? *Crit. Care.* 2016; 20 (1): 361. DOI: 10.1186/s13054-016-1531-y. PMID: 27829456
11. Gamrin L., Essén P., Forsberg A.M., Hultman E., Wernerman J. A descriptive study of skeletal muscle metabolism in critically ill patients: free amino acids, energy-rich phosphates, protein, nucleic acids, fat, water, and electrolytes. *Crit. Care Med.* 1996; 24 (4): 575–583. DOI: 10.1097/00003246-199604000-00005. PMID: 8612406
12. Tjader L., Rooyackers O., Forsberg A.M., Vesali R.F., Garlick P.J., Wernerman J. Effects on skeletal muscle of intravenous glutamine supplementation to ICU patients. *Intensive Care Med.* 2004; 30 (2): 266–275. DOI: 10.1007/s00134-003-2048-9. PMID: 14722645
13. Ahlman B., Ljungqvist O., Persson B., Bindslev L., Wernerman J. Intestinal amino acid content in critically ill patients. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.* 1995; 19 (4): 272–278. DOI: 10.1177/0148607195019004272. PMID: 8523625
14. Hammarqvist F., Wernerman J., Ali R., von der Decken A., Vinnars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. *Ann. Surg.* 1989; 209 (4): 455–461. DOI: 10.1097/00000658-198904000-00011. PMID: 2494960
15. van der Hulst R.R., van Kreel B.K., von Meyenfeldt M.F., Brummer R.J., Arends J.W., Deutz N.E., Soeters P.B. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet.* 1993; 341 (8857): 1363–1365. DOI: 10.1016/0140-6736(93)90939-E. PMID: 8098788

Received 02.10.18